



DT03 Rec'd PCT/PTO 04 FEB 2005

468.001

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:
GRASSET et al
Serial No.: 10/520,637
Filed: January 7, 2005
For: HORMONE...GYNECOLOGY

475 Park Avenue South
New York, N.Y. 10016
February 4, 2005

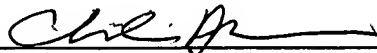
PRIORITY DOCUMENT

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

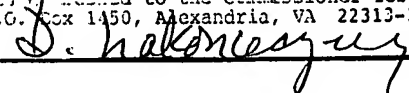
With respect to the above-captioned application, Applicants claim the priority of
the attached application as provided by 35 U.S.C. 119.

Respectfully submitted,
Muserlian, Lucas and Mercanti


Charles A. Muserlian, 19,683
Attorney for Applicant
Tel. # (212) 661-8000

CAM:ds
Enclosures: FR No. 02/086 19 of 7/9/02

"Express Mail" mailing label No. 2057877662US
Date of Deposit FEB 4, 2005
I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail Post Office to Addressee"
service under 27 CFR 1.10 on the date indicated
above and is being received by the Commissioner for
Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450





This Page Blank (uspto)

RECEIVED
FEB 11 2005
PCT INITIAL PROCESSING



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **24 JAN. 2005**

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Planche', is written over a horizontal line.

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr

Page Blank (uspio)

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 190600

REMISE DES PIÈCES DATE 9 JUIL 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0208619 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE 09 JUIL. 2002 PAR L'INPI		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BUREAU D.A. CASALONGA-JOSSE 8 Avenue Percier 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B 02/1518 FR-LM			
Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
<i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>		N° _____ Date ____/____/____ N° _____ Date ____/____/____	
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		<input type="checkbox"/> N° _____ Date ____/____/____	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Composés à base d'hormone et de monoxyde d'azote et leur utilisation en obstétrique et en gynécologie.			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
Nom ou dénomination sociale		EFFIK	
Prénoms			
Forme juridique		Société Anonyme	
N° SIREN		_____	
Code APE-NAF		_____	
Adresse	Rue	Batiment 24 Parc Burospace	
	Code postal et ville	91572 BIEVRES	
Pays		FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			

REMISE DES PIÈCES DATE 9 JUIL 2002 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0208619 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI		08 540 W / 260899	
Vos références pour ce dossier : <i>(facultatif)</i>			B 02/1518 FR-LM		
6 MANDATAIRE					
Nom					
Prénom					
Cabinet ou Société			BUREAU D.A. CASALONGA-JOSSE		
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel					
Adresse	Rue	8 avenue Percier			
	Code postal et ville	75008	PARIS		
N° de téléphone <i>(facultatif)</i>					
N° de télécopie <i>(facultatif)</i>					
Adresse électronique <i>(facultatif)</i>					
7 INVENTEUR (S)					
Les inventeurs sont les demandeurs			<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée		
8 RAPPORT DE RECHERCHE			Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)		
Établissement immédiat ou établissement différé			<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		
Paiement échelonné de la redevance			Paiement en deux versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES			Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt <i>(joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence)</i> :		
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes					
10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)			VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI		
A. CASALONGA (bm 92-1044i) Conseil en Propriété Industrielle			C. CONTE		

**Composés à base d'hormone et de monoxyde d'azote
et leur utilisation en obstétrique et en gynécologie**

5 La présente invention concerne des composés capables de se fixer à des récepteurs d'hormones et possédant un groupement monoxyde d'azote ou un groupement donneur de monoxyde d'azote, leur utilisation pour prévenir des naissances avant terme, augmenter la dilatation du col de l'utérus à terme, dans le cadre d'une thérapie substitutive hormonale ou en tant qu'anti-hypertenseur et leur application thérapeutique pour la préparation d'un médicament utilisable en obstétrique et en
10 gynécologie.

Les naissances avant terme demeurent relativement communes, représentant de 5 à 10 % de toutes les grossesses. Cette proportion n'a pas évolué dans les 20-30 dernières années.

15 Une sécrétion adéquate de progestérone est en fait nécessaire au maintien de la grossesse jusqu'à terme. La progestérone est une hormone initialement sécrétée par le corpus luteum ou corps jaune dans l'ovaire puis par le placenta. L'inhibition de la contractilité utérine par la progestérone ou les dérivés de la progestérone a été démontrée en utilisant des modèles animaux pharmacologiques.

20 L'administration de progestérone durant le troisième trimestre de la grossesse afin de prévenir une délivrance avant la maturité de l'enfant a déjà été évoquée il y a plus de 20 ans. De ce fait, la progestérone micronisée a été administrée de façon très commune en France à des doses orales élevées (le plus souvent au moins 600 mg par jour) à des femmes afin d'éviter un accouchement prématuré. Cette utilisation a
25 cependant été arrêtée à la suite d'un risque de toxicité hépatique lié au traitement. De plus, ce traitement n'avait pas en fait d'incidence vraiment prouvée sur le poids de naissance et l'âge de gestation des enfants. Des études réalisées avec un dérivé de progestérone injectable n'ont pas non plus permis de démontrer l'efficacité de la progestérone dans la prévention de naissances avant terme.

30 Le monoxyde d'azote a récemment été identifié comme étant un modulateur important de la fonction cellulaire. Il a un effet relaxant puissant sur les cellules du muscle lisse. En fait, le trinitrate de glycérile était utilisé depuis de nombreuses années

pour soigner les symptômes d'angine de poitrine bien avant qu'on connaisse son mécanisme d'action (le trinitrate de glycérile est un fournisseur de monoxyde d'azote).

5 Le muscle de l'utérus, le myomètre, contient également des cellules musculaires lisses. La monoxyde d'azote synthase, l'enzyme qui synthétise le monoxyde d'azote, a ainsi un effet relaxant sur les cellules musculaires du myomètre de l'utérus et du col de l'utérus. Le monoxyde d'azote augmente également le flux sanguin utérin pendant la grossesse.

10 *In vivo*, l'inhibition de la production de monoxyde d'azote provoque une parturition avant terme chez les cobayes gestantes. Inversement, l'application locale à terme sur le col de l'utérus de nitroprusside de sodium, qui est un donneur de monoxyde d'azote, augmente la dilatation cervicale. Ceci montre que le monoxyde d'azote peut avoir deux effets différents, au niveau du corps de l'utérus, et au niveau du col. L'inhibition de la contraction de l'utérus relaxe le corps de l'utérus et peut prévenir un accouchement prématuré, avant terme. Lorsque le terme est atteint, l'induction d'un ramollissement et d'une dilatation du col peut aider à la progression de l'accouchement.

15 Les groupements donneurs d'acide nitrique tels que le trinitrate de glycérile ont ainsi été évalués chez la femme pour tester l'induction de la relaxation utérine. Des patientes dont l'état nécessitait une tocolyse urgente pour rétention placentaire, pour des problèmes d'extraction fœtale difficile ou pour inversion utérine aiguë ont été traitées avec une dose initiale intraveineuse de 50 à 500 microgrammes de nitroglycérine avec des bolus répétés à intervalles de 60 à 90 secondes.

20 Malgré l'efficacité de ce traitement, on a noté dans 41 % des cas la survenue d'une hypotension transitoire en dépit d'une hydratation intraveineuse [O'Grady JP, Parker RK, Patel SS. Nitroglycerin for rapid tocolysis: development of a protocol and a literature review. *J Perinataloy* 2000;1:27-33].

25 L'administration de nitroglycérine grâce à un timbre transdermique capable de délivrer 0,4 mg/heure de nitroglycérine a été testée sur un total de 33 femmes présentant un travail avant terme et comparée à un placebo. Ces femmes ont reçu une administration prophylactique en intraveineuse de 1000 ml d'une solution saline à 0,9 % pendant 1 à 2 heures pour éviter l'hypotension induite par la nitroglycérine. Les femmes qui ont reçu la nitroglycérine ont moins d'accouchement dans les 48 heures. Cependant, l'effectif était trop faible pour être interprétable au niveau statique.

30 Une étude plus importante a comparé l'efficacité du trinitrate de glycérile transdermique par des timbres de 10 ou 20 mg à une injection de ritodrine en

intraveineuse afin d'éviter une délivrance avant terme. Les résultats obtenus montrent que l'efficacité de ces deux traitements est similaire [Lees CC, Lojacono A, Thompson C, Danti L, Black RS, Tanzi P et al. *Glyceryl trinitrate and ritodrine in tocolysis: an international multicenter randomized study. Obstet Gynecol* 1999;94:403-8].

5 L'effet indésirable le plus courant observé avec la ritodrine était une tachycardie; pour le trinitrate de glycérile, c'étaient les maux de tête.

Le brevet WO 95 13802 décrit l'utilisation d'un substrat de la monoxyde d'azote synthase et/ou d'un donneur de monoxyde d'azote avec différents composés dont un progestatif afin d'inhiber la contraction utérine ou un inhibiteur de monoxyde
10 d'azote avec un antagoniste de la progestérone afin de stimuler la contractilité utérine.

Le brevet US 5 895 783 décrit l'administration simultanée de trois composés, un progestatif, un substrat de la synthase d'acide nitrique ou un donneur d'oxyde nitrique et différents composés à vocation anti-inflammatoire tels que les inhibiteurs de cyclo-oxygénase chez des femmes présentant une éclampsie avec ou sans travail avant
15 terme.

La nitroglycérine, l'arginine et la progestérone sont administrées dans des compositions séparées. Mais le dosage de progestérone doit être très élevé pour équivaloir à une quantité de 50 à 300 mg de progestérone injectée.

Le brevet US 5 595 970 décrit l'utilisation d'un substrat de monoxyde d'azote et/ou d'un donneur d'oxyde nitrique seul ou en combinaison avec un progestatif, un
20 œstrogène ou les deux pour tempérer la survenue des symptômes liés à la ménopause. Dans ce cas, la quantité de progestatif est équivalente à une dose de 50 à 300 mg de progestérone injectée, ce qui est extrêmement élevé.

Le brevet US 6 040 340 décrit une méthode pour améliorer le taux de grossesse par administration d'un substrat de monoxyde d'azote et/ou d'un donneur d'oxyde nitrique seul ou en combinaison avec un progestatif et de façon optionnelle, avec un œstrogène ou une méthode contraceptive. Là encore, une dose très élevée de
25 progestatif a été utilisée.

Le brevet US 6 028 106 décrit une méthode similaire pour relaxer le détroit vésical et traiter l'incontinence urinaire.
30

Le brevet WO 98 09948 décrit l'utilisation de composés dérivés de l'oxyde nitrique qui peuvent relaxer le muscle lisse et aider à contrôler l'incontinence urinaire et d'autres pathologies qui incluent la délivrance avant terme. Une combinaison d'un groupement capable de relarguer du monoxyde d'azote avec des corticostéroïdes a été

considérée seulement dans le but d'augmenter les propriétés anti-inflammatoires de ces corticoïdes.

5 La demanderesse a découvert une famille de composés capables de se fixer à des récepteurs d'hormones et comportant un groupement monoxyde d'azote ou un groupement donneur de monoxyde d'azote. Ces composés sont proposés pour exercer une action thérapeutique dans la prévention de naissances prématurées, dans le contrôle de la mobilité utérine, dans l'augmentation de la dilatation cervicale lors de l'étape du travail, dans le traitement hormonal de substitution des femmes ménopausées, dans
10 l'induction d'un cycle endométrial dans le cadre de la reproduction assistée et dans la prévention de l'hypertension.

L'invention a donc pour objet des composés capables de se fixer à des récepteurs d'hormones et comportant un groupement monoxyde d'azote ou un
15 groupement donneur de monoxyde d'azote.

Les récepteurs d'hormone sont choisis parmi des récepteurs stéroïdes, rétinoïdes et de dérivés de la vitamine D.

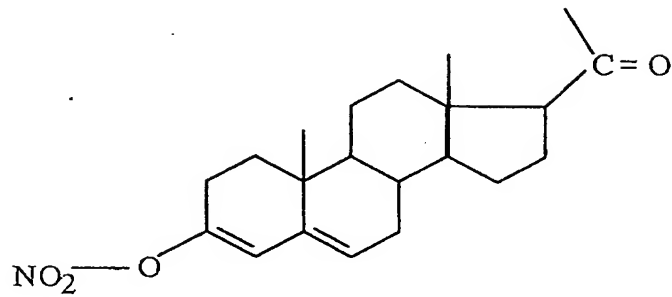
Les composés selon l'invention, capables de se fixer à des récepteurs d'hormone peuvent être des hormones naturelles ou synthétiques agissant comme
20 agoniste ou antagoniste après fixation sur le récepteur hormonal approprié. Les composés selon l'invention se fixent aux tissus riches en récepteur hormonal et délivrent le monoxyde d'azote à ces cellules.

Préférentiellement, ces hormones peuvent être des progestatifs, des œstrogènes, des minéralo-corticoïdes, des anti-minéralo-corticoïdes, des glyco-
25 corticoïdes, des anti-gluco-corticoïdes, des androgènes, des anti-androgènes ou une combinaison de ces hormones.

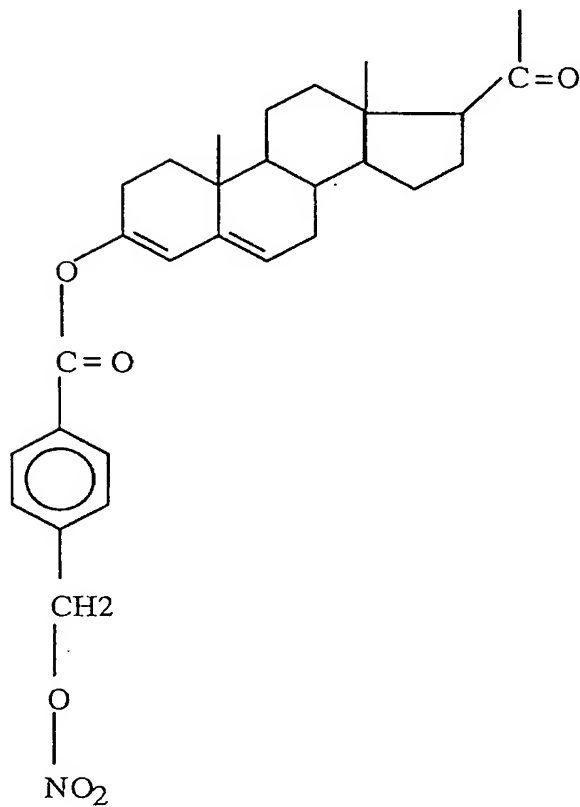
Plus préférentiellement, ces hormones peuvent être soit la progestérone, la 17OH progestérone, l'estradiol, l'éthinyl estradiol, l'aldostérone, la spironolactone, la drospirénone, le cortisol, un anti-cortisol, la testostérone ou un anti-androgène.
30

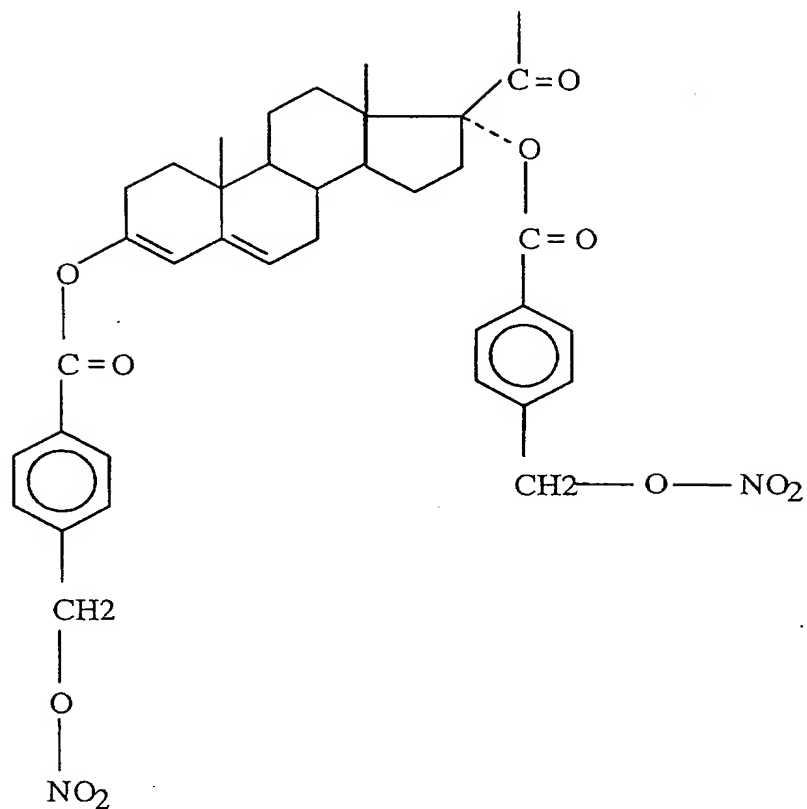
De préférence, l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est la progestérone ou la 17OH progestérone comportant éventuellement en fonction 3 de la progestérone un ou plusieurs groupements NO_2 lié(s) directement ou par l'intermédiaire d'un radical benzyloxy à l'atome d'oxygène dérivant de l'énol correspondant.

Ces hormones peuvent être de formule suivante :



5

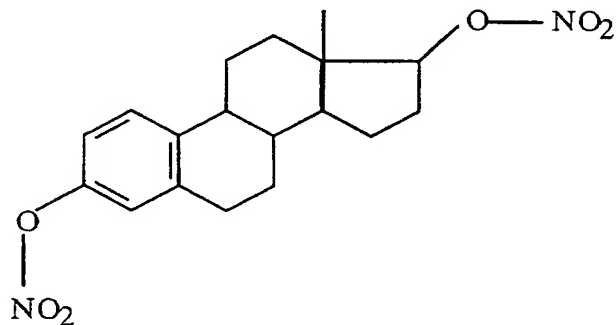


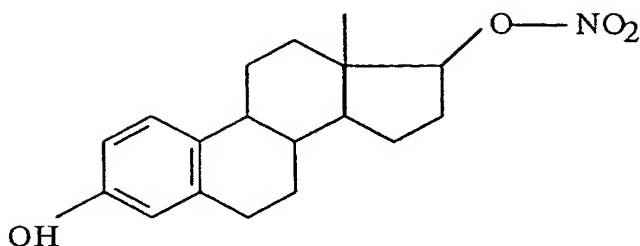


Dans un autre mode de réalisation de l'invention, l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est l'estradiol comportant éventuellement en 17 et/ou en 3 de l'estradiol un ou plusieurs groupements NO_2 lié (s) à l'atome d'oxygène.

5

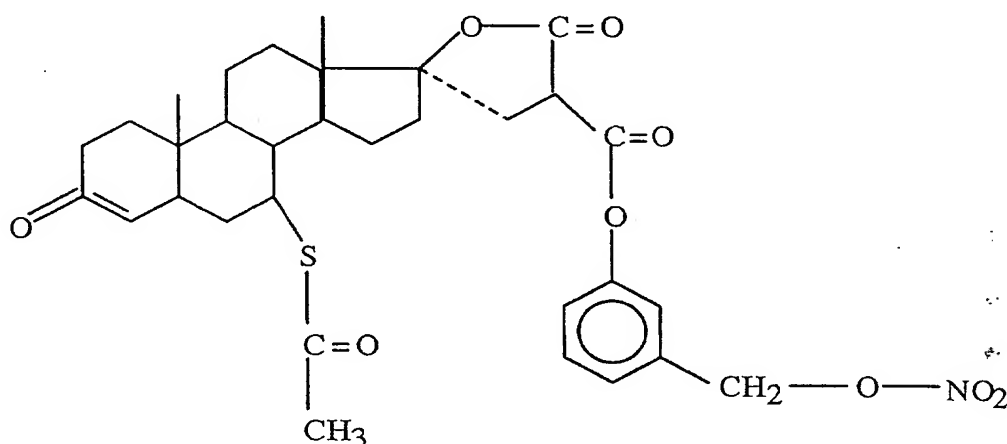
Ces hormones peuvent être de formule suivante :





Dans un autre mode de réalisation de l'invention, l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est la spironolactone comportant éventuellement en 17 de la spironolactone un groupement NO₂ lié par l'intermédiaire d'un radical benzyloxy à l'atome d'oxygène.

Ces hormones peuvent être de formule suivante :



10

Les composés de la présente invention tels que définis ci-dessus sont utilisables dans la prévention des naissances avant terme, dans le contrôle de la mobilité utérine et dans l'augmentation de la dilation du col de l'utérus au moment du travail.

15

Les composés selon l'invention sont également intéressants dans le cadre d'une thérapie substitutive pour les femmes ménopausées, pour l'induction d'un cycle artificiel dans la procréation assistée et dans le cadre d'un usage en tant qu'antihypertenseur.

Ces propriétés justifient leur application en thérapeutique et l'invention a particulièrement pour objet à titre de médicaments, les composés tels que définis ci-dessus dans un milieu pharmaceutiquement acceptable.

5 Le fait de combiner un monoxyde d'azote avec des hormones stéroïdes en particulier a les avantages suivants :

- l'obtention d'une accumulation sélective et une délivrance de monoxyde d'azote dans les tissus qui possèdent des récepteurs stéroïdes en même temps qu'un dosage réduit
- une augmentation de l'activité due à l'activité synergique avec la molécule stéroïde au sein du même tissu ;

10 Les différentes formes pharmaceutiques et les voies d'administration peuvent être :

- pour un usage oromuqueux : des comprimés buccaux ou oromuqueux ou de tels comprimés à effet retard, une pâte ou un gel gingival, une tablette à mâcher, une gomme à mâcher, une pastille, une capsule oromuqueuse, des gouttes, gel, un spray en
- 15 pâte ou n'importe quelle forme d'administration adéquate,
- pour un usage oral : des cachets, capsules, tablettes, tablettes recouvertes, capsules gastrorésistantes ou granulés,
- pour un usage nasal : un spray nasal, une solution à inhalation nasale, des gouttes nasales ou n'importe quelle autre forme d'administration nasale,
- 20 - pour une utilisation vaginale : un gel endocervical, une poudre endocervicale, une poudre pour un gel endocervical, une tablette servant à une solution vaginale, une émulsion vaginale, une capsule vaginale, une crème vaginale, une mousse vaginale, un gel vaginal, une irrigation vaginale, une solution vaginale ou une suspension vaginale, une tablette vaginale, un tampon vaginal ou n'importe quel autre moyen pouvant être
- 25 retiré pour une administration vaginale ou cervicale (tel qu'un ruban imprégné),
- pour un usage sous-cutané : une administration intramusculaire sous-cutanée (incluant une infusion continue à l'aide d'une pompe) ou une administration intraveineuse telle qu'une solution, suspension ou émulsion,
- pour une utilisation topique ou transdermale : un timbre, une crème, poudre ou spray.

30

Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois la limiter :

Exemple 1 : préparation de 3 nitric-enolester-pregna3(4)5(6) dien 20 one

La progestérone (une part de progestérone en poids) est dissoute dans un mélange de 5 volumes d'acétonitrile et de 2 volumes de tétrahydrofurane (THF) maintenu à 0°. Quand la réaction est complète, une solution d'acide paratoluène sulfonique à raison de 0,025 part dans 0,25 volume d'acétonitrile est ajoutée. Une solution d'acide nitrique à 65 % (1,1 mole d'acide nitrique par mole de progestérone) dissoute dans 2 volumes d'acétonitrile est alors ajoutée. Après un temps de réaction d'approximativement 30 minutes, le produit est extrait avec le THF, la solution est concentrée par évaporation et cristallisée dans l'éther isopropylique.

On obtient le nitrate d'énol de progestérone.

Exemple 2 : Préparation d'un dérivé nitrique de progestérone

La progestérone à raison d'1 part en poids est dissoute dans un mélange de 5 volumes d'acétonitrile et de 2 volumes de THF maintenu à 0°. Quand la réaction est complète, une solution d'acide paratoluène sulfonique à raison de 0,025 part dans 0,25 volume d'acétonitrile est ajoutée. Une solution de 4-nitroxy méthylbenzoate d'éthyle (1,1 mole par mole de progestérone) dissoute dans 2 volumes d'acétonitrile est ajoutée. Après un temps de réaction d'approximativement 30 minutes, le produit est extrait avec le THF, la solution est alors concentrée par évaporation et cristallisée dans l'isopropyléther.

Exemple 3 : préparation de la 17 α -hydroxy nitric ester pregna 4ene-3-20 dione

La 17 α -hydroxyprogestérone à raison d'une part en poids est dissoute dans 2,25 volumes d'anhydride acétique (pur à au moins 98 %) maintenue à 0°C. Une solution de 2,5 % d'acide paratoluène sulfonique maintenue à 0 C dans 0,25 volume d'anhydride acétique est alors ajoutée. Le mélange est chauffé avec précaution à une température entre 0 et 20°. Une solution à 65 % de 4-nitroxyméthyl benzoate d'éthyle (1,1 mole par mole) dans 2 volumes d'acétonitrile est ajoutée. Le mélange est maintenu pendant une heure à 20° puis 0,05 part en poids de triéthylamine est ajoutée et le produit est mélangé à 10 parts d'un mélange eau + glace. Le produit est filtré et lavé puis resolubilisé dans du méthanol qui contient 10 % d'eau, acidifié avec de l'acide nitrique (0,9 mole par mole) et chauffé à reflux pendant 2 heures. Trois volumes de chlorure de méthylène sont ensuite ajoutés. Le produit est neutralisé, refroidi et extrait

Exemple 1 : préparation de l'ester nitrique d'énol 3 pregna-3(4)5(6) diène-20 one

La progestérone (une part de progestérone en poids) est dissoute dans un mélange de 5 volumes d'acétonitrile et de 2 volumes de tétrahydrofurane (THF) maintenu à 0°. Quand la réaction est complète, une solution d'acide paratoluène sulfonique à raison de 0,025 part dans 0,25 volume d'acétonitrile est ajoutée. Une solution d'acide nitrique à 65 % (1,1 mole d'acide nitrique par mole de progestérone) dissoute dans 2 volumes d'acétonitrile est alors ajoutée. Après un temps de réaction d'approximativement 30 minutes, le produit est extrait avec le THF, la solution est concentrée par évaporation et cristallisée dans l'éther isopropylique.

On obtient le nitrate d'énol de progestérone.

Exemple 2 :Préparation d'un dérivé nitrique de progestérone

La progestérone à raison d'1 part en poids est dissoute dans un mélange de 5 volumes d'acétonitrile et de 2 volumes de THF maintenu à 0°. Quand la réaction est complète, une solution d'acide paratoluène sulfonique à raison de 0,025 part dans 0,25 volume d'acétonitrile est ajoutée. Une solution de 4-nitroxy méthylbenzoate d'éthyle (1,1 mole par mole de progestérone) dissoute dans 2 volumes d'acétonitrile est ajoutée. Après un temps de réaction d'approximativement 30 minutes, le produit est extrait avec le THF, la solution est alors concentrée par évaporation et cristallisée dans l'isopropyléther.

Exemple 3 : préparation de l'ester nitrique de la 17 α -hydroxy progestérone

La 17 α -hydroxyprogestérone à raison d'une part en poids est dissoute dans 2,25 volumes d'anhydride acétique (pur à au moins 98 %) maintenue à 0°C. Une solution de 2,5 % d'acide paratoluène sulfonique maintenue à 0 C dans 0,25 volume d'anhydride acétique est alors ajoutée. Le mélange est chauffé avec précaution à une température entre 0 et 20°. Une solution à 65 % de 4-nitroxyméthyl benzoate d'éthyle (1,1 mole par mole) dans 2 volumes d'acétonitrile est ajoutée. Le mélange est maintenu pendant une heure à 20° puis 0,05 part en poids de triéthylamine est ajoutée et le produit est mélangé à 10 parts d'un mélange eau + glace. Le produit est filtré et lavé puis resolubilisé dans du méthanol qui contient 10 % d'eau, acidifié avec de l'acide nitrique (0,9 mole par mole) et chauffé à reflux pendant 2 heures. Trois volumes de chlorure de méthylène sont ensuite ajoutés. Le produit est neutralisé, refroidi et extrait

avec du chlorure de méthylène. Le chlorure de méthylène est alors éliminé et le produit est cristallisé dans du méthanol.

Exemple 4 : préparation d'un dérivé nitrique de l'estradiol

5 Une part en poids d'acétate d'estradiol est dissoute dans 2 volumes de pyridine à 20°, du chlorure de nitrile (à raison d'1,2 mole par mole) est ajouté à 20°C et maintenu à cette température pendant 4 heures. Le produit est alors versé dans un mélange de 10 parts d'eau et de glace et à 2,5 volumes d'acide chlorhydrique 22° Baumé, mélangé à 0°C, lavé et séché. Le produit est placé dans du méthanol à
10 reflux, 5 volumes, cristallisé dans le méthanol. Après séchage, le dérivé nitrique de l'estradiol est obtenu avec un rendement de 88 %.

Exemple 5 : préparation d'un dérivé dinitrique d'estradiol

15 Une part en poids d'estradiol est dissoute dans un mélange de 5 volumes d'acétonitrile et de 2 volumes de THF et maintenue à 0°. Une solution de 0,025 part d'acide paratoluène sulfonique dans 0,25 volumes d'acétonitrile est alors ajoutée puis une solution d'acide nitrique à 65 % (2,5 moles par mole) dans deux volumes d'acétonitrile et le mélange est laissé à réagir toute la nuit à 20°C. Le produit est extrait avec du chlorure de méthylène et cristallisé dans de l'éther isopropylique. Du dinitrate
20 d'estradiol est obtenu.

Exemple 6 : préparation d'un dérivé nitrique de spironolactone

0,116 part de sodium métal est ajouté à 4 volumes d'éthanol sous atmosphère d'azote à 20° et chauffé à reflux jusqu'à dissolution. Le mélange est refroidi à 30° et
25 1,288 part de malonate d'éthyle est ajouté, suivi par l'addition d'une part de diénoxirane. Le mélange est chauffé à reflux pendant 5 heures, refroidi et neutralisé avec 0,3 volumes d'acide acétique puis on ajoute 5 volumes d'eau. Le précipité est filtré, lavé et séché. Le carbaldiène est obtenu avec un rendement estimé de 85 %. Une solution est préparée avec une part de carbaldiène, 1,28 part de 3-hydroxybenzylnitrate,
30 0,75 part de dicyclohexyl carbodiimide et 20 volumes de dichlorométhane. Cette solution est laissée une nuit à 20°. Ensuite, les solvants sont concentrés, le dicyclohexylurée est éliminé par filtration et le produit est cristallisé dans l'éthanol. Le nitrate de carboxydiène est obtenu avec un rendement estimé de 80%.

Le nitrate de carboxydiene est alors dissous dans 3,5 volumes d'éthanol, et 0,4 part d'acide thioacétique est ajouté. La solution est chauffée à reflux pendant 3 heures puis refroidie à 0° pendant une heure. Le produit est alors séché. La spironolactone est obtenue avec un rendement estimé de 94%.

5

Exemple 7 : Inhibition *in vitro* de la contractilité utérine spontanée ou induite dans des utérus de rates non gestantes

Des femelles Old Wistar intactes âgées de 90 jours, pesant de 180 à 200 g, sont tuées par décapitation le lendemain du jour II du diestrous. Leur utérus entier non nettoyé est retiré et placé dans une solution de Kreb's Ringer modifiée (tampon contrôle à 2% de diméthylsulfoxyde) à 37°. Le tissu est nettoyé de la graisse et du fascia qui l'enveloppent, et coupé en petits anneaux de 5 mm. Ces anneaux sont attachés à un transducteur de déplacement de force sous une tension de 1gramme. Le tissu est laissé pendant une période d'équilibration de 30 minutes afin de laisser se développer les contractions. Le tampon contrôle est remplacé par un tampon qui contient le produit à tester (exemple 1 à 3) ou la progestérone seule en présence ou non de l'antagoniste du récepteur picrotoxine (32 µg/ml) ou le mifepristone (RU-486).

10

15

20

Différentes concentrations du produit testé sont utilisées pour comparer les effets utéro-relaxants du produit-test aux effets de la progestérone seule. Aucun anneau de tissu n'est utilisé dans plus d'une expérience contrôle-test. La tension pour chaque type d'expérience est mesurée pendant une période de 10 mn. Les contractions utérines sont analysées en tension totale générée en gramme de tension par gramme de tissu. Cette étude a pour but de montrer l'activité utéro-relaxante du produit testé.

25

Exemple 8 : Inhibition *in vitro* de la contractilité utérine spontanée et induite dans des utérus de cobayes gestantes

Le but est de mesurer l'action du produit-test sur des contractions utérines induites par l'oxytocine.

30

Des cobayes matures au 20^e jour de gestation sont utilisés. Un segment utérin de 10 mm est retiré et suspendu à un système de levier (1g) dans un bain organique contenant 35 ml de solution physiologique (Van Dyke-Hasting) maintenu à 37° et continuellement bullé avec O₂CO₂.

Les contractions sont induites par l'oxytocine à la concentration de 10⁻⁴ moles/ml. Les contractions sont mesurées avec un transducteur linéaire couplé à un

enregistreur. L'addition du produit-test à différentes concentrations montre l'action utéro-relaxante que les contractions de l'utérus en gestation soient spontanées ou induites. L'action de ces produits est également comparée à l'action de la progestérone.

5 Exemple 9 : Mesure *in situ* de la contractilité et de la pression artérielle dans des utérus complets

La contractilité utérine est évaluée par la mesure des changements de pression artérielle dans un utérus perfusé par une canule *in situ*. Les changements de la pression artérielle sont également déterminés. La mesure de la vitesse du sang artériel utérin reflète en effet la perfusion de cet organe.

10 Cinq femelles vierges de cobaye Hartley sont anesthésiées le jour 1 de leur oestrus (c'est-à-dire le premier jour de l'ouverture du vagin) avec du pentobarbital sodium à la concentration de 35 mg/kg. La veine jugulaire externe est canulée pour une administration de produit à tester et l'artère carotide est également canulée pour

15 enregistrer la pression artérielle. L'utérus est exposé par une incision médiane abdomino-péritonéale. Une première canule est insérée à la jonction uterotubale et une deuxième canule est insérée à travers le col de l'utérus dans l'utérus et est fixée. Le liquide de perfusion (de l'eau distillée à température ambiante) est perfusé à la vitesse

20 de 0,5 ml/mn à travers la canule de la jonction uterotubale et est collecté à partir de la canule présente dans le col de l'utérus. Le produit testé est administré et comparé à la progestérone. Les modifications de la pression de la perfusion utérine sont enregistrées avec des transducteurs de pression Beckman couplés à un enregistreur. Les réponses dans le tonus utérin sont quantifiées en termes de millimètres de pression de mercure. Les modifications de la pression artérielle sont également enregistrées.

25 Exemple 10 : Mesure *in vivo* de la vitesse sanguine artérielle utérine et de la pression systémique dans des rates gestantes.

Des rates Wistar gestantes sont anesthésiées et ventilées de façon mécanique avec un ventilateur pour petits rongeurs. La température du corps est maintenue à 37°.

30 La veine jugulaire est canulée pour l'injection de produits à tester et la pression systémique est enregistrée à partir de l'artère carotide gauche. L'utérus est alors exposé et maintenu humide par une solution physiologique. La rapidité artérielle utérine principale est mesurée par un Doppler.

5 L'administration du produit permet la mesure de l'influence des contractions utérines spontanées ou induites par la phényléphrine et également de mesurer la pression systémique. Ce test peut également être utilisé dans des études comparatives avec d'autres produits capables de relaxer l'utérus comme la progestérone seule, des donneurs de NO ou des antagonistes adrénergiques, comme par exemple la ritodrine.

Exemple 11 : Action *in vivo* des produits selon l'invention sur le travail de rates gestantes.

10 La capacité des traitements par ces drogues à retarder le début du travail est évaluée dans un modèle qui mesure le temps de délivrance spontanée entre le premier et le second raton à naître dans une grossesse à terme.

15 Des femelles gestantes sont placées dans des cages individuelles en plastique à partir des jours 16 à 19 de grossesse. A partir du jour 22, les femelles sont observées de façon continue. Immédiatement à la délivrance du premier raton, les femelles reçoivent le produit à tester. Le temps de délivrance du premier raton est enregistré puis la femelle est placée dans sa cage et observée jusqu'à la délivrance du second raton. Les résultats sont exprimés en temps passé entre les première et la deuxième délivrances.

20 Les produits administrés sont soit le produit objet de l'invention, soit la progestérone seule, soit la ritodrine ou soit un placebo afin de comparer les effets de ces différents produits.

Exemple 12 : Action *in vivo* sur la maturation cervicale utérine dans des rates gestantes.

25 Le but est de mesurer la maturation cervicale de rates femelles adultes. Ces rates gestantes en fin de grossesse présentant une maturation cervicale spontanée ou induite sont traitées avec le produit-test, la progestérone seule ou le placebo administrés de façon vaginale. Les mesures de temps pour terminer la délivrance, la force nécessaire pour dilater le col de l'utérus et le temps pour obtenir la dilatation sont enregistrés.

30 Exemple 13 : Traitement de la menace d'accouchement prématuré chez la femme

a) par injection :

Une solution contenant un des composés des exemples 1 à 3 (dérivés de la progestérone et de la 17- hydroxyprogestérone) est reconstituée extemporanément et infusée par voie sous-cutanée, grâce à un cathéter inséré sous la peau et à l'utilisation

d'une pompe à la dose initiale de 1 mg à 2 mg par heure, selon l'intensité des contractions. Cette dose peut être très progressivement augmentée si besoin sous surveillance constante de la pression artérielle. Lorsqu'une diminution de la fréquence des contractions est obtenue, le dosage peut être très progressivement diminué.

5

b) par l'ingestion d'un comprimé

Un comprimé sublingual contenant un des composés des exemples 1 à 3 est placé sous la langue sans être avalé ni croqué. Le dosage initial est de 3 mg. La prise peut être répétée deux fois, à une heure d'intervalle (9 mg en 2 heures au total), sous surveillance continue de la pression artérielle. Les prises seront ensuite répétées toutes les 8 heures pendant une durée de 48 heures.

10

c) par un gel intranasal

Un gel aqueux contenant un des composés des exemples 1 à 3, dosé à 5 mg par dose unitaire, est appliqué dans une narine. Cette dose peut être répétée trois heures plus tard, sous surveillance continue de la pression artérielle. Les applications sont ensuite répétées toutes les 8 heures pendant une durée de 48 heures.

15

d) par gel intravaginal

Un gel contenant un des composés des exemples 1 à 3, est inséré dans la cavité vaginale. Le dosage initial est de 10 mg de principe actif, sous surveillance continue de la pression artérielle. Une deuxième administration sera effectuée 24 heures plus tard.

20

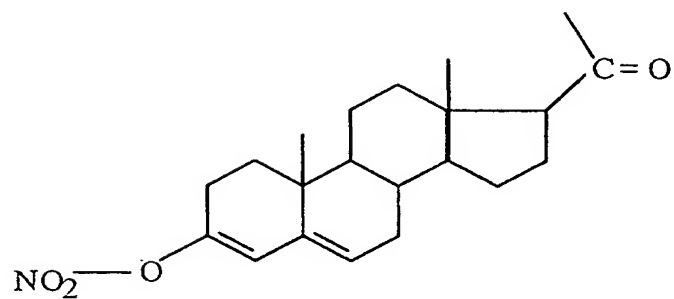
25

REVENDICATIONS

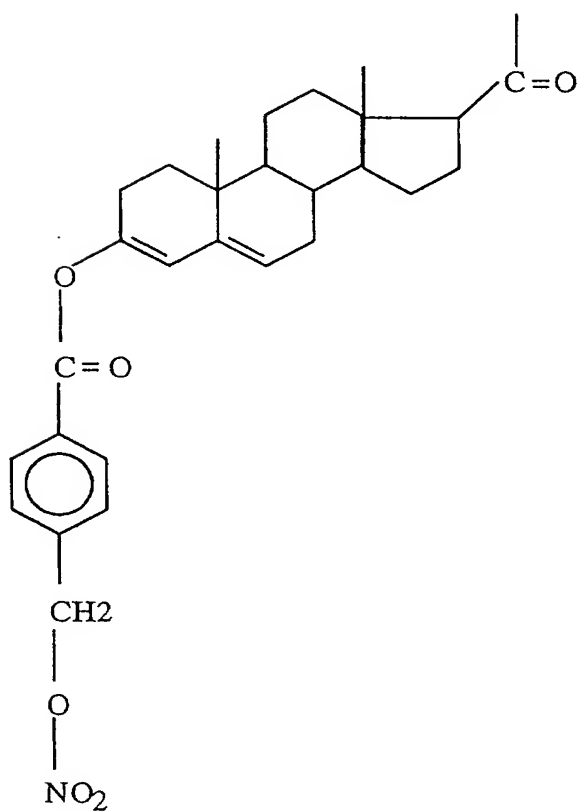
1. Composé caractérisé par le fait qu'il est choisi parmi les composés capables de se fixer à des récepteurs d'hormones et qu'il comporte un groupement monoxyde d'azote ou un groupement donneur de monoxyde d'azote.
- 5 2. Composé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que les récepteurs d'hormone sont choisis parmi des récepteurs stéroïdes, rétinoïdes et de dérivés de la vitamine D.
3. Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé par le fait que le composé capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est une hormone naturelle.
- 10 4. Composé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé par le fait que le composé capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est une hormone synthétique.
- 15 5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est choisie dans le groupe composé d'une hormone progestative, d'un œstrogène, d'un minéralo-corticoïde, d'un anti-minéralo-corticoïde, d'un glyco-corticoïde, d'un anti-gluco-corticoïde, d'un androgène ou d'un anti-androgène ou d'une combinaison de ces hormones.
- 20 6. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est choisi dans le groupe suivant : progestérone, 17OH progestérone, estradiol, éthinyl estradiol, aldostérone, spironolactone, drospirénone, cortisol, anti-cortisol, testostérone, anti-androgène.
- 25 7. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est la progestérone.
8. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est la 17OH progestérone.
- 30 9. Composé selon la revendication 7, caractérisé par le fait qu'il comporte en position 3 de la progestérone un ou plusieurs groupements NO₂ lié(s) directement ou par l'intermédiaire d'un radical benzyloxy à l'atome d'oxygène dérivant de l'énol correspondant.

16

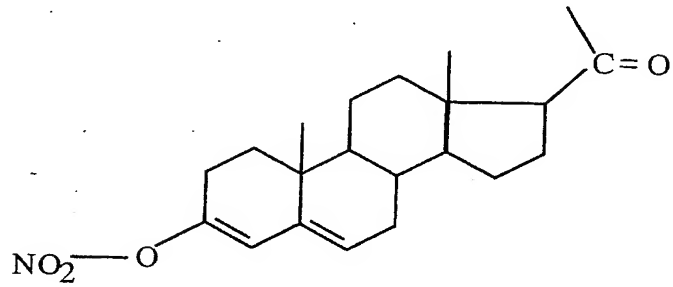
10. Composés selon la revendication 8, caractérisés par le fait qu'ils répondent aux formules :



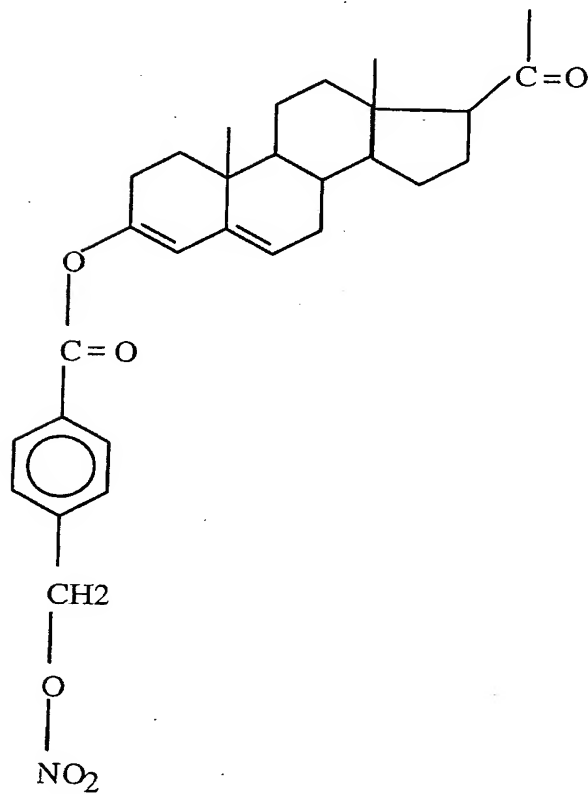
5



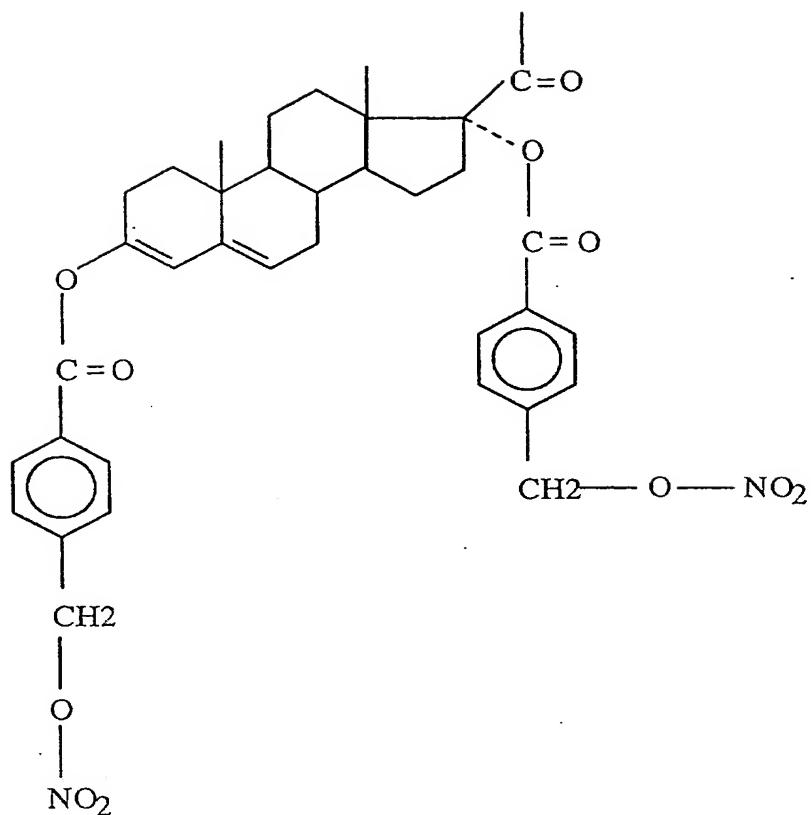
10. Composés selon la revendication 9, caractérisés par le fait qu'ils répondent aux formules :



5



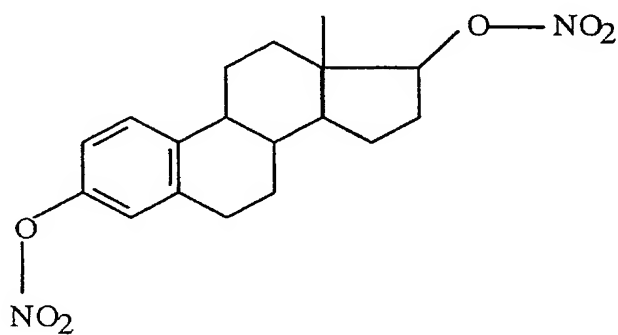
17

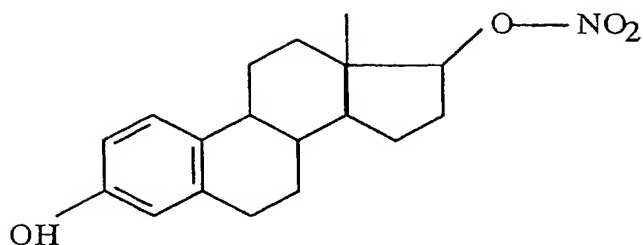


11. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est l'estradiol.

12. Composé selon la revendication 11, caractérisé par le fait qu'il comporte en fonction 17 et/ou 3 de l'estradiol un ou plusieurs groupements NO_2 lié(s) à l'atome d'oxygène.

13. Composés selon la revendication 12, caractérisés par le fait qu'ils répondent aux formules

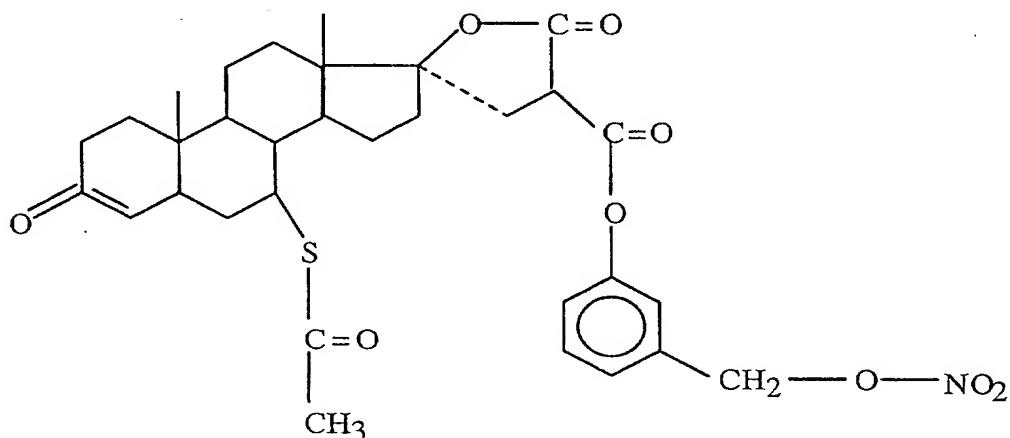




14. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé
5 par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est la
spironolactone.

15. Composé selon la revendication 14, caractérisé par le fait qu'il comporte en position 17 de la spironolactone un groupement NO₂ lié par l'intermédiaire d'un radical benzyloxy à l'atome d'oxygène.

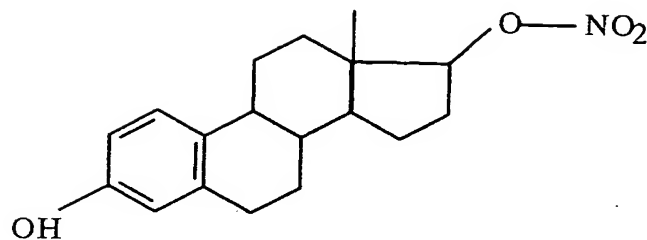
10 16. Composé selon la revendication 8, caractérisé par le fait qu'il répond
à la formule



15 17. Composé selon l'une quelconque des revendications 7 à 16 pour son application comme médicament.

18. Composition pharmaceutique caractérisée par le fait qu'elle comprend dans un milieu pharmaceutiquement acceptable, un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.

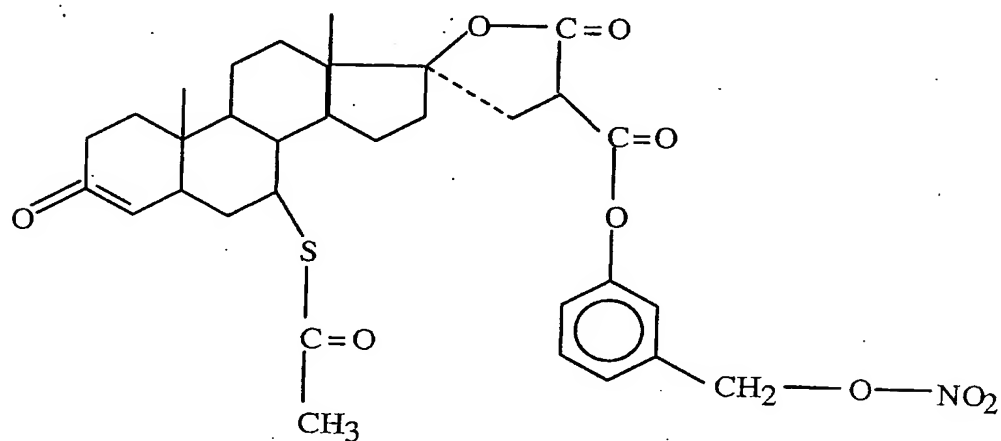
18



5 14. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé par le fait que l'hormone capable de se fixer à des récepteurs d'hormones est la spironolactone.

15. Composé selon la revendication 14, caractérisé par le fait qu'il comporte en position 17 de la spironolactone un groupement NO_2 lié par l'intermédiaire d'un radical benzyloxy à l'atome d'oxygène.

10 16. Composé selon la revendication 15, caractérisé par le fait qu'il répond à la formule



15 17. Composé selon l'une quelconque des revendications 7 à 16 pour son application comme médicament.

18. Composition pharmaceutique caractérisée par le fait qu'elle comprend dans un milieu pharmaceutiquement acceptable, un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.

19. Médicament caractérisé par le fait qu'il contient au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 dans la prévention des naissances prématurées.

5 20. Médicament selon la revendication 19 pour son application thérapeutique dans la prévention des naissances prématurées.

21. Médicament selon la revendication 19 pour son application thérapeutique dans le contrôle de la mobilité utérine.

22. Médicament selon la revendication 19 pour son application thérapeutique dans l'augmentation de la dilatation cervicale lors de l'étape du travail.

10 23. Médicament selon la revendication 19 pour son application thérapeutique dans le traitement hormonal de substitution des femmes ménopausées.

24. Médicament selon la revendication 19 pour son application thérapeutique dans l'induction d'un cycle endométrial dans le cadre de la procréation assistée.

15 25. Médicament selon la revendication 19 pour son application thérapeutique dans la prévention ou le traitement de l'hypertension artérielle.

26. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention des naissances prématurées.

20



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

cerfa
N° 11235*02

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1. / . 2.
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

08 113 W / 260899

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B 02/1518 FR-LM	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0208619	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)			
Composés à base d'hormone et de monoxyde d'azote et leur utilisation en obstétrique et en gynécologie.			
LE(S) DEMANDEUR(S) :			
Société Anonyme dite : EFFIK			
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		GRASSET	
Prénoms		Etienne, Alfred Robert	
Adresse	Rue	54 passage Les enfants du paradis	
	Code postal et ville	92100 BOULOGNE-BILLANCOURT, France	
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		MENDEZ	
Prénoms		Felix	
Adresse	Rue	Fernando Catolico 77	
	Code postal et ville	28028 MADRID, Espagne	
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		PAVAN	
Prénoms		Carlo	
Adresse	Rue	26-28 Grande rue Charles de Gaulle	
	Code postal et ville	94130 NOGENT sur MARNE, France	
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Paris, le 9 Juillet 2002. A. CASALONGA (bm 92-1044i) Conseil en Propriété Industrielle	



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

cerfa
N° 11235*02

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° . 2. / . . 2
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B 02/1518 FR-LM	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0208619	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)			
Composés à base d'hormone et de monoxyde d'azote et leur utilisation en obstétrique et en gynécologie.			
LE(S) DEMANDEUR(S) :			
Société Anonyme dite : EFFIK			
DESIGNÉ(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		TERRACOL	
Prénoms		Didier	
Adresse	Rue	4 allée des Lauriers	
	Code postal et ville	91370 VERRIERE le BUISSON, France	
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Paris, le 9 Juillet 2002. A. CASALONGA (bm 92-1044i) Conseil en Propriété Industrielle	